



Doctoral Thesis

Molecular Mechanisms of Nuclear Pore Complex Scaffold Disassembly During Mitotic Entry

Author(s):

Köhler, Mario

Publication Date:

2019

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-b-000335897> →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. (25809)

**Molecular Mechanisms of Nuclear Pore Complex Scaffold
Disassembly During Mitotic Entry**

A thesis submitted to attain the degree of
Doctor of Sciences
(Dr. sc. ETH Zürich)

Presented by

Mario Köhler

Master of Science in Biochemistry and Molecular Biology,
University of Potsdam

Born on September 3rd, 1986

In Schweinfurt

Citizen of Germany

Accepted on the recommendation of

Prof. Karsten Weis, examiner

Prof. Wolfram Antonin, co-examiner

Prof. Benoît Kornmann, co-examiner

Prof. Thomas U. Mayer, co-examiner

2019

Summary

Higher eukaryotic cells undergo massive rearrangements during open mitosis. Fundamentally, to initiate spindle formation for efficient chromosome segregation the nuclear envelope (NE) breaks down. This foremost includes the disassembly of nuclear pore complexes (NPCs) that are responsible for nucleo-cytoplasmic trafficking in intact interphase nuclei. Several kinases, such as cyclin-dependent kinase 1 (CDK1) and members of the Nek family, were implicated in facilitating crucial phosphorylation events that lead to the disruption of the permeability barrier by releasing Nup98 from its anchor points within the NPC during prophase. In this thesis, I collaboratively unraveled the collective interplay between CDK1 and Polo-box kinase 1 (PLK1) that brings about the efficient release of the inner ring complex (IRC) component Nup53 from other IRC constituents, the transmembrane Nup NDC1 and the double lipid bilayer. Thereby, CDK1 phosphorylation potentially breaks the interactions between Nup53 and its IRC neighbors. Moreover, this priming event further leads to PLK1 recruitment and subsequent phosphorylation by the kinase domain of PLK1 at S314 of the C-terminus of Nup53. Besides, detailed mechanistic insights within the IRC, a proteome-wide screening approach of protein complex rearrangement comparing interphase and mitotic cell populations revealed a novel mitotic NPC subcomplex. This new module comprising the IRC members Nup188 and Nup93 and all components of the central FG channel could serve as soluble storage of the central channel throughout mitosis and assure a rapid establishment of a functional transport passage during NPC reassembly. Most importantly our targeted analysis for OR disassembly suggests that specific phosphorylation of the tip end of the Y-complex member Nup133 could support partial liberation of the entire complex from membrane and neighboring connectors. Together our results show the importance of phosphorylation of key interconnecting nucleoporins (Nups) for NPC disassembly and point to a novel function of Y-complexes potentially during NPC reassembly at the end of mitosis.

Zusammenfassung

Höhere eukaryotische Zellen vollziehen eine enorme strukturelle Veränderung während der Mitose. Um die Ausbildung einer mitotischen Spindel und darauffolgende Chromosomenaufteilung zu ermöglichen, bricht die Kernmembran zusammen. Zuallererst beinhaltet dieser Mechanismus die Disassemblierung der Kernporen (NPCs). NPCs sind während der Interphase von intakten Zellkernen für den gerichteten Transport zwischen Kerninnerem und Zytoplasma verantwortlich. Einige Kinasen, wie zum Beispiel CDK1 und Mitglieder der Nek Familie, sind für bedeutende Phosphorylierungen, die zum Zusammenbruch der Permeabilitätsbarriere und einem Abspalten von Nup98 von NPC Bindungspartnern führen, verantwortlich. In dieser Arbeit wurde zunächst die Wirkungsweise von CDK1 und PLK1, die gemeinsam eine Freisetzung von Nup53, einer Komponente des inneren Rings des NPCs, hervorrufen, verdeutlicht. Dabei werden Bindungen zwischen Nup53 und sowohl der Lipid-Doppelschicht als auch des Transmembran-Proteins NDC1 gebrochen. CDK1-Phosphorylierung von Nup53 ist dabei wahrscheinlich für die Aufspaltung der Interaktionen zwischen Nup53 und verschiedenen Komponenten des inneren Rings verantwortlich. Des Weiteren führt dieses vielfache Phosphorylierungsevent zu einer Rekrutierung von PLK1. Daraufhin ist es der Kinasen-Domäne von PLK1 möglich, Serin 314 welches sich in unmittelbarer Nähe innerhalb des C-Terminus von Nup53 befindet, zu phosphorylieren. Außerdem konnten wir durch die Anwendung eines Proteomweiten Screens, worin Interphase und Prometaphase-Zellpopulationen auf das Verhalten von Protein-Komplexierung verglichen wurden, einen neuen mitotischen NPC Subkomplex identifizieren. Das neue Modul, bestehend aus Nup188, Nup93 und allen Komponenten der zentralen FG Nups, könnte als lösliche Komponente während der Mitose den Zusammenbau des NPC nach Kernteilung vereinfachen. Diese Vereinfachung könnte weiterhin eine rasche Etablierung des für intakte Zellen notwendigen Transportnetzwerkes zwischen Kerninnerem und Zytoplasma ermöglichen. Als weiteren Punkt wurde eine gezielte Analyse des äußeren Ringes des NPC während der Mitose durchgeführt.

Es wurde impliziert, dass die spezifische Phosphorylierung von Nup133, einer Komponente des Y-Komplexes, das partielle Herauslösen des gesamten Komplexes von Membran und Interaktionspartnern in vitro unterstützen könnte. Zusammengefasst verdeutlichen unsere Daten die Notwendigkeit des Phosphorylierungs-Mechanismus für NPC Disassemblierung und deuten außerdem auf eine neue Funktion des Y-Komplexes während des Zusammenbaus der Kernpore nach Ablauf der Mitose hin.